甜菜夜蛾低龄幼虫取食含 Cry1Ac 毒素的人工饲料对其生长发育和成虫繁殖的影响

陈 建，江幸福*，罗礼智，胡 毅
（中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京 100193）

摘要：为了更全面地评价转 Bt 基因作物对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua*（Hübner）(鳞翅目：夜蛾科）的影响，在室内研究了甜菜夜蛾低龄幼虫连续6 d 取食含不同浓度 Cry1Ac 毒素的人工饲料后转移到不含毒素的饲料上，其生长发育与成虫繁殖的变化。结果表明：低龄幼虫取食含 Cry1Ac 的饲料 6 d 内，校正死亡率随 Cry1Ac 浓度的升高以及取食时间的延长而升高。与一直取食不含 Cry1Ac 饲料的对照相比，取食含 Cry1Ac 饲料的幼虫体重显著下降；幼虫历期、预蛹期及雌雄蛹期均显著延长，但雌雄蛹重均与对照无显著差异；幼虫化蛹率显著下降，但羽化率与对照无显著差异；成虫产卵前期显著延长，产卵期与对照无显著差异，仅在 5 μg/g 处理下较对照显著延长 1.3 d；每雌产卵量以 10 μg/g处理最高（719 粒），但各处理均与对照无显著差异；雌蛾寿命均显著延长，而雄蛾寿命仅在最高浓度80 μg/g 下显著延长 2.4 d。这表明，尽管含不同浓度 Cry1Ac 毒素的饲料对甜菜夜蛾低龄幼虫有明显的生长发育抑制作用或导致死亡，但转移至不含毒素的饲料上取食后，幼虫能迅速恢复生长，顺利化蛹、羽化并产卵。因此，在转 Bt 基因作物田生长后期，甜菜夜蛾低龄幼虫取食表达 Cry1Ac 蛋白的组织若能存活并完成世代发育和繁殖，这无疑将增加甜菜夜蛾对 Bt 作物产生抗性的风险，因此亟需制定 Bt 作物生态系统中甜菜夜蛾的治理策略。

关键词：甜菜夜蛾；人工饲料；低龄幼虫；Cry1Ac 毒素；生长发育；繁殖
中图分类号：Q965 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2010)10-1119-08

Influences of feeding artificial diet containing different concentrations of Cry1Ac toxin by early-instar larvae of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on its larval development and adult reproduction

CHEN Jian, JIANG Xing-Fu*, LUO Li-Zhi, HU Yi (State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: To obtain a full-scale assessment of the influences of transgenic Bt crops on the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), larval development and adult reproduction of the *S. exigua* were examined when early-instar larvae fed on artificial diet containing different concentrations of Cry1Ac toxin for six days and then transferred to non-Cry1Ac toxic diet. The results showed that the corrected mortality of *S. exigua* significantly increased with increasing of concentration of Cry1Ac toxin and prolonging of feeding time when early-instar larvae fed on artificial diet containing Cry1Ac toxin for six days. As compared to the control fed on non-Cry1Ac toxic diet, larval body weight was significantly decreased when early-instar larvae fed on the artificial diet containing Cry1Ac toxin. Larval duration, pre-pupal duration, male and female pupal duration were all significantly delayed, but male and female pupal body weight were not significantly different from those of control. Percentage of pupation was significantly declined, but the emergence rates were not significantly different from those of control. Pre-oviposition period of adult was significantly delayed, but oviposition period was not significantly different from that of control except that adults with early-instar larvae fed on the 5 μg/g Cry1Ac toxin diet had a significantly longer oviposition period (1.3 d longer). The highest number of eggs laid per female was observed when the early-instar larvae fed on the artificial diet containing 10 μg/g Cry1Ac toxin, but all the Cry1Ac toxin diet treatments had no significant difference compared with the control. Female longevity was all significantly prolonged, but not male except the treatment of the highest concentration (80 μg/g) of Cry1Ac toxin diet which resulted in a significantly longer longevity (2.4 d longer). These results indicated that the artificial diet containing different

基金项目：转基因生物新品种培育重大专项(2009ZX08011-018B)；公益性行业(农业)科技专项(200803007)
作者简介：陈建，1986 年生，江苏金坛人，硕士，研究方向为农业昆虫与害虫综合治理，E-mail：chenjian_8603@126.com
* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: xfjiang@ippcaas.cn
收稿日期 Received: 2010-03-28；接受日期 Accepted: 2010-09-15

concentrations of Cry1Ac toxin have significant inhibition on the growth and development of *S. exigua* or directly resulted in death in larval stage, but when larvae were transferred to non-Cry1Ac toxic diet, they could recover fast, pupate, emerge and oviposit successfully. Therefore, once the early-instar larvae could survive and complete a generation after eating the plant tissue expressing Cry1Ac protein in the late development of the transgenic Bt crops, this will bring more risk of *S. exigua* on resistance to Bt crops, so it needs to develop an appropriate management strategy for this pest in agricultural Bt crops ecosystem.

Key words: *Spodoptera exigua*; artificial diet; early-instar larvae; Cry1Ac toxin; growth and development; reproduction

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner)是一种多食性远距离迁飞害虫(Mikkola and Salmensuu, 1965),广泛分布于温带地区(Gill, 1987)。该虫寄主广泛,幼虫取食的植物种类涉及到35科108属的138种植物,包括多种作物和蔬菜(王晓容等, 1995)。自20世纪90年代以来,甜菜夜蛾在我国全面暴发,严重危害蔬菜、棉花等经济作物,造成了巨大的经济损失(江幸福,1998),近年来,因农业产业结构调整及气候变暖等多种因素影响,甜菜夜蛾的危害范围进一步扩展(江幸福和罗礼智, 1999;罗礼智等,2000)。

苏云金杆菌 *Bacillus thuringiensis* (简称Bt)是目前世界上应用最为成功的微生物杀虫剂(Lereclus *et al*., 1995),对鳞翅目害虫具有较强的毒杀作用和专一性(Höfte and Whiteley, 1989),但与鳞翅目夜蛾科其他昆虫相比,甜菜夜蛾对Bt较不敏感(Moar *et al*., 1986; Moar *et al*., 1990)。近年来,国内外针对甜菜夜蛾也进行过高毒力菌株的筛选(Luttrell *et al*., 1999; Porcar *et al*., 2000;郑大胜等,2000; Hernández-Martínez *et al*., 2008),测定了多种Cry毒素对甜菜夜蛾的 LC_{50} (median lethal concentration)值或 ED_{50} (median effective dose)值(Moar *et al*., 1990; De Maagd *et al*., 2000; Gilliland *et al*., 2002; Crespo *et al*., 2008);而国内有关Bt毒素对甜菜夜蛾影响的研究起步较晚,近年来有较多转Bt基因作物对甜菜夜蛾生长发育研究的报道(赵小公等,1999;曾晓慧等,1999;夏敬源等,2000;王振营等,2005;黄东林等,2007;张小丽等, 2007;钟勇等,2009),都表明甜菜夜蛾幼虫对Bt作物具有一定的适应性,田间不易治理。由于Bt基因在棉株体内的表达随着器官的不同,生育时期的不同而表现出时空动态变化,特别是随着棉花生长发育进度的推进,Bt蛋白在叶片中的表达程度逐渐减弱(孙伟和曹玉洪,2005),在9月上旬,大部分器官中已检测不到Bt毒蛋白或含量甚微(张小四等,2000)。因此,当甜菜夜蛾幼虫期食物从含毒素转换成不含毒素后其生长发育及繁殖的变化却不得而知。本文以Bt作物中常见的Cry1Ac毒素为材料,在室内用含Cry1Ac的饲料饲养甜菜夜蛾初孵幼虫6 d后再转移至不含毒素的正常饲料上继续饲养,观察其生长发育和成虫繁殖的变化,以期更好地监测Bt作物田甜菜夜蛾种群动态,为合理制定Bt作物田甜菜夜蛾的综合治理策略提供依据,从而有力完善与补充转Bt基因作物的生态安全性风险评估,保持转基因作物与环境之间和谐、健康和可持续地发展。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试昆虫:所用虫源采自北京市郊区菜地,经本实验室在室内用人工饲料(江幸福和罗礼智, 1999)累代繁殖约55代后,选择发育良好的虫源作为供试材料。

1.1.2 Cry1Ac蛋白溶液:由中国农业科学院植物保护研究所生物技术组提供,浓度为3 μg/μL。

1.1.3 甜菜夜蛾人工饲料的准备:吸取一定量的Cry1Ac蛋白溶液分别稀释后置于1 mL离心管中放入冰盒中备用,分别称取30 g约40℃(水银温度计测量)的人工饲料置于100 mL烧杯中,迅速用移液枪将离心管中的溶液加入其中并迅速搅拌,配制成分别含Cry1Ac蛋白浓度为5, 10, 20, 40和80 μg/g的人工饲料,作为处理;以加入同体积蒸馏水的饲料作为对照。

1.2 饲养条件

养虫室条件为26±1℃,相对湿度60%~75%,光照14L:10D,每周定期将养虫室内虫子或蛾子搬出并用紫外灯消毒0.5 h。

1.3 实验方法

1.3.1 幼期观察:将初孵幼虫(≤12 h)接至每孔

已含饲料体积约 0.2 cm^3 的 24 孔细胞培养板中（长 12.8 cm，宽 8.5 cm，高 2.3 cm，孔径 1.6 cm，孔深度 1.7 cm），单孔单头饲养，每处理接 48 头幼虫，每处理 3 个重复，每隔 1 d 统计死亡数。取食 6 d 后每处理随机抽取 30 头幼虫用十万分之一电子天平称重后，将所有试虫均转移至不含毒素的正常饲料上仍单孔单头饲养，取食正常饲料 4 d 后每处理再次随机抽取 30 头幼虫称重。至 5 龄时转移至指形管（直径 2.5 cm，高 7.9 cm）中单头化蛹。每一试虫均编号，每日观测，详细记录其幼虫历期，3 日龄蛹重，蛹期，化蛹率及羽化率等指标。

1.3.2　成虫期观察：每处理随机选取 20 对以上的初羽化成虫，置于上口径 7.0 cm、下口径 4.8 cm 的塑料杯中，杯底放入吸有蜂蜜水的小方块海绵，并用长 11 cm，宽 10.5 cm 的卫生纸盖上。每天更换卫生纸、塑料杯和吸有蜂蜜水的海绵，直至成虫死亡。记载成虫的产卵前期、逐日产卵量、产卵期、寿命及单雌总产卵量。

1.4　数据统计与分析

方差分析和回归分析均用 SAS 8.0 版本的统计软件；处理间不同参数经方差统计分析差异显著后，用 Duncan 氏多重比较方法进行显著性测定。

2　结果与分析

2.1　不同浓度 Cry1Ac 饲养甜菜夜蛾初孵幼虫 6 d 其校正死亡率的变化

在取食含不同 Cry1Ac 浓度的饲料 6 d 里，各处理下的校正死亡率存在极显著差异（2 d：$df=4$，$F=82.34$，$P<0.0001$；4 d：$df=4$，$F=49.96$，$P<0.0001$；6 d：$df=4$，$F=42.94$，$P<0.0001$）。校正死亡率随饲料中 Cry1Ac 浓度的升高以及取食时间的延长而显著升高（$P<0.05$）（表 1）。在取食 2 d 后，80 μg/g 处理的死亡率达 20.8%，显著高于 5 μg/g处理（$P<0.05$），是其约 6 倍；4 d 后的观察结果与 2 d 后的结果差异显著性一致，但 6 d 后的观察结果开始出现变化：20 μg/g 处理（14.6%）仍然与 10 μg/g 处理（9.0%）没有显著差异（$P>0.05$），但与 40 μg/g 处理（20.1%）开始表现差异不显著（$P>0.05$）。

从表 1 中还可以看出，不同浓度处理的幼虫随着取食天数的延长，其死亡率上升幅度随着 Cry1Ac 浓度的升高而增大。当把 Cry1Ac 浓度取对数设为 x，各个处理的平均校正死亡率设为 y，则平均校正死亡率与浓度对数成显著正相关（$P<0.05$）。2 d 后的直线回归方程为 $y=5.7389x+0.7986$，相关系数 $r=0.8978$，$P=0.0386$；4 d 后的直线回归方程为 $y=4.4296x+0.7861$，相关系数 $r=0.9106$，$P=0.0289$；6 d 后的直线回归方程为 $y=3.4813x+0.6624$，相关系数 $r=0.9043$，$P=0.0350$。

表 1　不同浓度 Cry1Ac 饲养甜菜夜蛾初孵幼虫不同时间的校正死亡率

Table 1　Corrected mortality of *Spodoptera exigua* neonates fed on different concentrations of Cry1Ac for different time

Cry1Ac 浓度（μg/g） Concentration of Cry1Ac	校正死亡率（%） Corrected mortality		
	2 d	4 d	6 d
5	3.5 ±1.2 cB	4.2 ±0.0 cB	9.0 ±1.2 cA
10	3.5 ±1.2 cB	4.2 ±0.0 cB	9.0 ±3.2 cA
20	4.9 ±1.2 cC	7.6 ±1.2 cB	14.6 ±0.0b cA
40	11.1 ±1.2 bB	14.6 ±2.1 bAB	20.1 ±4.8 bA
80	20.8 ±2.1 aB	27.5 ±4.8 aB	38.9 ±4.3 aA

表中所列数据为平均数 ± 标准差。同一列数据后不同字母为 Duncan 氏多重比较差异显著，下同。The data in the table are mean ± *SD*; means of each concentration within a column indicated by different lowercase letters are significantly different; means within a row indicated by different uppercase letters are significantly different (Duncan's test, $P<0.05$). The same for the following tables.

应用 SAS 8.0 统计分析软件，根据校正死亡率计算出的 LC_{50}值随着感染时间的延长而降低：初孵幼虫取食 2 d 后 LC_{50}值高达 669.5 μg/g，4 d 后为 417.1 μg/g，6 d 后降至 292 μg/g。

2.2　幼虫转移至正常饲料上后的校正死亡率及对蛹重、化蛹率和羽化率的影响

在转移至正常饲料上 2 d 后，20 μg/g 处理的校正死亡率与 10 μg/g 处理出现差异显著（$P<0.05$）（表2），而与 40 μg/g 处理间已经没有显著差异（$P>0.05$），并且这种差异显著性结果一直维持至幼虫预蛹。幼虫在转移至正常饲料上后期的存活与前期相比变化并不明显：初孵幼虫取食含 Cry1Ac 的饲料 6 d 后和转移至正常饲料上 4 d 后的死亡率相比较并无显著变化。当至幼虫准备预蛹，不同浓度处理下的校正死亡率存在极显著差异（$df=4$，$F=65.42$，$P<0.0001$）：最高浓度 80 μg/g 处理的校正死亡率已经达到 47.2%，接近死亡一半，与低浓度（5 μg/g 和 10 μg/g）和中浓度（20 μg/g 和 40 μg/g）处理相比差异均显著（$P<0.05$）。

表 2 甜菜夜蛾低龄幼虫转移至不含毒素的饲料上继续饲养不同时间后的校正死亡率

Table 2 Corrected mortality of *Spodoptera exigua* early-instar larvae after transferred to non-toxic diet for different time

Cry1Ac 浓度(μg/g) Concentration of Cry1Ac	校正死亡率(%) Corrected mortality		
	2 d	4 d	幼虫期 Whole larval period
5	9.7 ±1.2 c	9.7 ±1.2 c	11.1 ±1.2 c
10	9.0 ±3.2 c	9.0 ±3.2 c	9.0 ±3.2 c
20	16.7 ±2.1 b	17.4 ±1.2 b	18.8 ±2.1 b
40	21.5 ±4.3 b	21.5 ±4.3 b	22.2 ±5.2 b
80	40.3 ±4.8 a	43.1 ±2.4 a	47.2 ±3.2 a

转移至正常饲料上存活下来的幼虫大部分均能发育至蛹，从表 3 中可以看出，所有处理的雌雄蛹重均无显著差异(雌蛹重：$df = 5$，$F = 1.13$，$P = 0.3474$；雄蛹重：$df = 5$，$F = 1.15$，$P = 0.3380$)，均重都在 100 mg 以上；但幼虫的化蛹率随 Cry1Ac 浓度的升高而显著下降($df = 5$，$F = 80.17$，$P < 0.0001$)：对照的化蛹率和羽化率均接近 100%，且与低浓度(5 μg/g 和 10 μg/g)、中浓度(20 μg/g 和 40 μg/g)及高浓度(80 μg/g)均有显著差异($P < 0.05$)，最高浓度 80 μg/g 处理的化蛹率甚至不及 60%；蛹的羽化率(羽化的蛾数占蛹数的比例)随 Cry1Ac 浓度的升高呈下降趋势，但各处理均较对照无显著差异($P > 0.05$)。

表 3 不同浓度 Cry1Ac 饲养甜菜夜蛾低龄幼虫 6 d 对其蛹重、化蛹率及羽化率的影响

Table 3 Pupal weight, pupation rate and emergence rate of *Spodoptera exigua* early-instar larvae fed on different concentrations of Cry1Ac for 6 d

Cry1Ac 浓度(μg/g) Concentration of Cry1Ac	3 日龄蛹重(mg) Day-3 pupa weight		化蛹率(%) Pupation rate	羽化率(%) Emergence rate
	♂	♀		
0	110.71 ±8.43 a(34)	122.74 ±8.41 a(34)	98.6 ±2.4 a	99.3 ±1.3 a
5	111.78 ±7.04 a(25)	123.01 ±8.39 a(20)	88.9 ±1.2 b	99.2 ±1.3 a
10	108.67 ±5.55 a(23)	120.95 ±10.6 a(21)	90.3 ±3.2 b	96.9 ±2.7 a
20	110.83 ±8.14 a(20)	118.26 ±7.59 a(25)	81.3 ±2.1 c	99.2 ±1.5 a
40	108.78 ±6.83 a(26)	118.89 ±8.04 a(19)	77.8 ±5.2 c	97.5 ±4.3 a
80	107.25 ±8.32 a(18)	119.41 ±12.5 a(27)	53.5 ±2.4 d	90.9 ±10.1 a

数据括号内为样本数，下同。Different numbers in the brackets following the data are the number of samples. The same for the following tables.

2.3 不同浓度 Cry1Ac 饲养甜菜夜蛾低龄幼虫 6 d 对其体重的影响

初孵幼虫取食含不同 Cry1Ac 浓度的饲料 6 d 后，幼虫体重随饲料中 Cry1Ac 浓度的升高而显著降低($df = 5$，$F = 175.93$，$P < 0.0001$)，除了 20 μg/g和 40 μg/g 这两个处理间差异不显著($P > 0.05$)外，其余各处理间差异均显著($P < 0.05$)(图 1)。其中，最高浓度处理 80 μg/g 中随机抽取的 30 头幼虫中，最轻的体重只有 0.19 mg，其龄期只停留在 1 龄；而最低浓度 5 μg/g 处理中最小的也有 4.31 mg，约是其 23 倍；10，20，40 和 80 μg/g 这 4 个处理抽样中的最轻体重均不足 1 mg。

在转移至正常饲料上取食 4 d 后，各个处理间体重的差异显著性结果与初孵幼虫取食 6 d 后的结果一致，试虫均有不同程度的生长：对照组平均体重达到 90.03 mg，低浓度(5 μg/g 和 10 μg/g)处理试虫恢复作用比较明显，均重都大于 50 mg，但最高浓度 80 μg/g 处理的试虫平均只有 8.14 mg，最轻的还不足 1 mg，而对照组中最轻的也有 45.39 mg，约是其 45 倍。

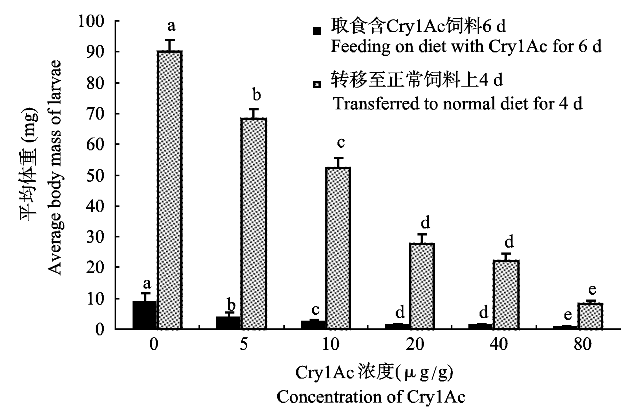


图 1 取食毒素饲料 6 d 后与换上正常饲料 4 d 后不同处理甜菜夜蛾幼虫体重比较

Fig. 1 Comparison of larval body mass of *Spodoptera exigua* with different treatments after feeding on diet with CrylAc for 6 d and transferred to normal diet for 4 d

初孵幼虫在取食含 Cry1Ac 的饲料 6 d 后，幼虫体重随饲料中 Cry1Ac 浓度的升高而急剧下降，表明初孵幼虫对含 Cry1Ac 的饲料有较强的拒食作用。当把 Cry1Ac 浓度的对数设为 x（表 4），取食 6 d 后的虫重换算成因 Cry1Ac 影响而减少的体重 y（幼虫因 Cry1Ac 影响而减少的体重 = 对照试虫体重 − 处理试虫体重）后，y 与 x 有显著的相关关系（$P < 0.05$），其回归方程为 $y = 0.3569x - 1.2051$，相关系数 $r = 0.9567$，$P = 0.0107$。

表 4　不同浓度 Cry1Ac 饲养甜菜夜蛾低龄幼虫 6 d 对其体重的影响

Table 4　Body mass of *Spodoptera exigua* early-instar larvae after feeding on different concentrations of Cry1Ac for 6 d

Cry1Ac 浓度（μg/g） Concentration of Cry1Ac	浓度对数 Logarithm of concentration x	幼虫平均体重（mg） Average body mass of larvae	幼虫因 Cry1Ac 影响而减少的体重（mg） Reduced body mass because of Cry1Ac y
80	1.9031	0.6003	8.3534
40	1.6021	1.2983	7.6554
20	1.301	1.423	7.5307
10	1	2.4507	6.503
5	0.697	3.8883	5.0654
0		8.9537	

毒素浓度对数（x）与幼虫因毒素影响而减少的体重（y）之间关系的直线回归方程 Linear regression model of x and y: $y = 0.3569x - 1.2051$, $r = 0.9567$.

2.4　不同浓度 Cry1Ac 饲养甜菜夜蛾低龄幼虫 6 d 对其幼虫历期、预蛹期及蛹期的影响

幼虫历期随着低龄期饲料中 Cry1Ac 浓度的升高而显著延长（$df = 5$，$F = 313.28$，$P < 0.0001$）（表 5），各处理的差异显著性与两次虫重结果一致，表明幼虫的发育历期与幼虫期的生长是相互吻合的。转移至正常饲料后，各处理试虫均有不同程度的恢复，至幼虫预蛹时，这种恢复作用在各处理间差距在缩小：20 μg/g 和 40 μg/g 这两个浓度下已经没有显著差异（$P > 0.05$），均为 14.0 d；而最高浓度 80 μg/g 下幼虫平均历期相比于对照已延长 3.7 d。

预蛹期除了 5 μg/g 处理没有显著延长外，其他 4 个处理与对照相比均显著延长（$P < 0.05$）。雄蛹期从 20 μg/g 处理开始显著延长，雌蛹期也呈现出延长的趋势。从表 5 中数据总体来看，预蛹期、雌雄蛹期都有一定的延长趋势，但延长的天数并不是很多，各个处理之间差距并不大，表明处理组试虫转移至正常饲料后能较快的适应并恢复生长。

表 5　不同浓度 Cry1Ac 饲养甜菜夜蛾低龄幼虫 6 d 对其幼虫历期、预蛹期及蛹期的影响

Table 5　Developmental duration of larvae, pre-pupae and pupae of *Spodoptera exigua* early-instar larvae fed on different concentrations of Cry1Ac for 6 d

Cry1Ac 浓度（μg/g） Concentration of Cry1Ac	幼虫历期（d） Larval duration	预蛹期（d） Pre-pupal duration	蛹期（d） Pupal duration	
			♂	♀
0	11.3 ± 0.7 e(144)	2.2 ± 0.5 b(144)	8.5 ± 0.5 c(34)	7.7 ± 0.6 b(34)
5	12.1 ± 0.7 d(128)	2.3 ± 0.5 b(128)	8.5 ± 0.5 c(25)	7.2 ± 0.5 d(20)
10	12.8 ± 0.9 c(131)	2.5 ± 0.5 a(131)	8.5 ± 0.6 c(23)	7.5 ± 0.5 c(21)
20	14.0 ± 0.8 b(117)	2.5 ± 0.5 a(117)	9.1 ± 0.3 b(20)	7.9 ± 0.4 ab(25)
40	14.0 ± 0.9 b(112)	2.5 ± 0.6 a(112)	9.1 ± 0.5 b(26)	7.9 ± 0.5 a(19)
80	15.0 ± 1.0 a(76)	2.6 ± 0.6 a(76)	8.9 ± 0.6 a(18)	7.8 ± 0.5 ab(27)

2.5 不同浓度 Cry1Ac 饲养甜菜夜蛾低龄幼虫 6 d 对其成虫繁殖的影响

取食 Cry1Ac 毒素的幼虫羽化出来的雌雄蛾交配后，雌蛾产卵前期显著延长（$df = 5$, $F = 12.89$, $P < 0.0001$）（表 6），其中 20 μg/g 处理相比于对照显著延长达 1.0 d（$P < 0.05$）；雌蛾产卵期也有所延长，但除了低浓度 5 μg/g 处理较对照显著延长 1.3 d（$P < 0.05$）外，其他处理较对照延长均不显著（$P > 0.05$）；每雌产卵量呈现先增后减的趋势：其中以 10 μg/g 处理最高（719 粒），但所有处理间均无显著差异（$df = 5$, $F = 1.82$, $P = 0.1121$），而高浓度 80 μg/g 处理的雌蛾产卵量较对照却有所下降，且与低浓度 10 μg/g 处理相比显著减少（$P < 0.05$）；雌蛾的寿命均显著延长（$df = 5$, $F = 4.74$, $P = 0.0004$），而雄蛾的寿命仅以最高浓度 80 μg/g 处理显著延长达 2.4 d（$P < 0.05$），但雌雄蛾的寿命在各饲毒处理间均没有显著差异（$P > 0.05$）。

表 6 不同浓度 Cry1Ac 饲养甜菜夜蛾低龄幼虫 6 d 对其成虫繁殖的影响

Table 6 Adult reproduction of *Spodoptera exigua* with early-instar larvae fed on different concentrations of Cry1Ac for 6 d

Cry1Ac 浓度（μg/g） Concentration of Cry1Ac	供试成蛾对数 Pairs of adults tested	产卵指标 Index of oviposition			成虫寿命（d）Longevity of adult	
		产卵前期（d） Preoviposition period	每雌产卵量（粒） Eggs laid per female	产卵期（d） Oviposition duration	♀	♂
0	24	2.0 ± 0.2 d	620.6 ± 177.5 ab	3.8 ± 1.8 b	6.3 ± 2.7 b	8.3 ± 3.0 b
5	34	3.0 ± 0.6 ab	629.8 ± 193.9 ab	5.1 ± 2.4 a	8.5 ± 2.5 a	9.0 ± 3.2 ab
10	34	2.9 ± 0.7 ab	719.3 ± 137.4 a	4.2 ± 1.7 ab	9.1 ± 2.0 a	9.5 ± 2.8 ab
20	32	3.0 ± 0.6 a	658.4 ± 206.5 ab	5.0 ± 1.9 ab	8.6 ± 2.5 a	10.0 ± 3.4 ab
40	33	2.6 ± 0.6 c	661.4 ± 157.4 ab	4.9 ± 2.2 ab	8.2 ± 2.4 a	9.0 ± 2.6 ab
80	28	2.7 ± 0.5 bc	585.2 ± 241.1 b	4.4 ± 2.5 ab	7.9 ± 2.5 a	10.7 ± 3.7 a

3 讨论

国外研究表明，Cry1Ca，Cry1Da 以及 Cry1Fa 对甜菜夜蛾的杀虫效果最好，而且与 Cry1Aa，Cry1Ab 和 Cry1Ac 都表现出对甜菜夜蛾幼虫相似的生长抑制作用（Hernández-Martínez *et al.*, 2008）。本实验研究表明，甜菜夜蛾初孵幼虫在取食含 Cry1Ac 的饲料 6 d 内，不同 Cry1Ac 浓度下的校正死亡率随着其浓度的升高以及取食时间的延长而升高，取食 6 d 后的 LC_{50}值为 292 μg/g，国外 Moar 等（1990）最早用 HD-1 菌株提取的 Cry1Ac 蛋白溶液测得对甜菜夜蛾的 LC_{50}值甚至大于 500 μg/mL，表明甜菜夜蛾幼虫在鳞翅目夜蛾科中确实属于对 Cry1Ac 低敏感型（殷向东等，2004），因此田间单含 Cry1Ac 基因的作物对甜菜夜蛾幼虫的杀虫效果并不理想，治理起来困难较大。

前人用含有 Bt 毒素的人工饲料或 Bt 棉叶（玉米叶）饲喂甜菜夜蛾幼虫结果表明，幼虫历期延长（黄东林等，2007；Wu *et al.*, 2008；钟勇等，2009），蛹重减轻（Wu *et al.*, 2008；钟勇等，2009）或增加（张小丽等，2007）或影响不大（王振营等，2005），蛹期缩短（钟勇等，2009），单雌产卵量减少（薛明等，2002；Wu *et al.*, 2008）或增加（张小丽等，2007）或差异不大（王振营等，2005），成虫产卵历期和寿命缩短（薛明等，2002；黄东林等，2007）。而在本实验中，前期用含 Cry1Ac 的饲料饲喂低龄幼虫 6 d，而后转移至不含 Cry1Ac 的正常饲料上继续饲养，结果幼虫历期显著延长，蛹重差异不显著，蛹期延长，成虫产卵前期、产卵期及雌雄蛾寿命均延长，单雌产卵量还有所增加（如浓度 10 μg/g和 20 μg/g）。这些结果表明，Bt 毒素对甜菜夜蛾生长发育和繁殖都产生一定的影响，只是由于材料与方法的不同会导致某些指标出现差异，但都有一个共性：甜菜夜蛾幼虫期取食 Bt 植物或饲料存活的幼虫大都能化蛹、羽化并产卵，都表现出较好的适应性；本研究还发现，甜菜夜蛾幼虫期经过一个含 Cry1Ac 毒素到无 Cry1Ac 毒素的食料转换后，成虫产卵量在低浓度处理中还有所提高，这也许是近年来屡有报道 Bt 棉田甜菜夜蛾危害有加重

趋势（王万群等，2002；李瑞奇等，2005）的原因之一。因此，生产中应重视 Bt 作物上甜菜夜蛾种群发生危害的特点，密切关注其种群动态的监测，并逐步建立防范其爆发成灾的应急机制。

甜菜夜蛾在长江流域 1 年发生多代，世代重叠现象较为明显，而棉花生长后期多在 8 – 9 月份，这正好是甜菜夜蛾发生高峰期（周文和汪登松，2004）。有资料研究表明，Bt 毒蛋白在转基因棉花中的表达具有时空动态特征，特别是在棉花生育后期，Bt 毒蛋白的表达有一个下降过程（孙伟和曹玉洪，2005），在 9 月上旬，大部分器官中已检测不到 Bt 毒蛋白或含量甚微（张小四等，2000）。本实验着重在室内模拟甜菜夜蛾幼虫期从有毒至无毒这个食料转换过程，结果表明存活的幼虫能顺利完成世代发育并产卵。因此，在转 Cry1Ac 基因作物田（如棉花）生长后期，甜菜夜蛾低龄幼虫取食作物组织若能存活并完成世代发育和繁殖，这无疑将增加甜菜夜蛾对 Bt 作物田产生抗性的风险。转基因棉和甜菜夜蛾田间为害时间的这种交互作用从而可以显著影响其种群动态和虫源越冬基数，对田间综合防治增加更大的难度。所以，在生产实际中应特别注意转 Bt 作物生长后期甜菜夜蛾种群的综合治理，同时要加快双价甚至多价转 Bt 作物的研究与应用，指导农户对不同类型的单抗品种轮换种植或混系种植，通过国家对转 Bt 作物的宏观调控管理，建立严格的安全性评价体系和跟踪监测机制，从而有力完善与补充转 Bt 作物的生态安全性风险评估，更好地加快转 Bt 作物商业化推广种植，保持转基因作物与环境之间和谐、健康和可持续地发展。

致谢　中国农业科学院植物保护研究所生物技术组张杰研究员惠赠 Cry1Ac 蛋白溶液，谨此致谢！

参 考 文 献（References）

Crespo ALB, Spencer TA, Nekl E, Pusztai-Carey M, Moar WJ, Blair DS, 2008. Comparison and validation of methods to quantify Cry1Ab toxin from *Bacillus thuringiensis* for standardization of insect bioassays. *Econ. Entomol.*, 74(1): 130 – 135.

De Maagd RA, Weemen-Hendriks M, Stiekema W, Bosch D, 2000. *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin Cry1C domain III can function as a specificity determinant for *Spodoptera exigua* in different, but not all, Cry1-Cry1C hybrids. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 1559 – 1563.

Gill KS, 1987. Insect pests of linseed. In: Linseed. Indian Council of Agricultural Research, New Delhi, India. 342 – 355.

Gilliland A, Chamber CE, Bone EJ, Ellar DJ, 2002. Role of *Bacillus thuringiensis* Cry1 δ endotoxin binding in determining potency during lepidopteran larval development. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(4): 1509 – 1515.

Hernández-Martínez P, Ferré J, Escriche B, 2008. Susceptibility of *Spodoptera exigua* to 9 toxins from *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97: 245 – 250.

Höfte H, Whiteley RH, 1989. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.*, 53: 242 – 255.

Huang DL, Xia JY, Liu H, Wang W, Ji ZW, Wang Q, 2007. Effects of CpTI + Bt transgenic cotton and Bt transgenic cotton on population increase and preference of *Spodoptera exigua* (Hb.). *Acta Phytophyl. Sin.*, 34(5): 461 – 465. [黄东林，夏锦瑜，柳慧，王伟，季正文，王倩，2007. 转 CpTI + Bt 基因棉和转 Bt 棉对甜菜夜蛾种群增长和行为的影响. 植物保护学报，34(5): 461 – 465]

Jiang XF, 1998. Investigation on outbreak and control of the beet armyworm *Spodoptera exigua* (Hb.) in China. *Agrochemical Science and Technology*, (6): 8 – 10. [江幸福，1998. 甜菜夜蛾在我国的发生为害及防治概括. 农资科技，(6): 8 – 10]

Jiang XF, Luo LZ, 1999. Outbreak of *Spodoptera exigua* (Hb.) and its control. *Plant Protection*, 25(3): 32 – 34. [江幸福，罗礼智，1999. 甜菜夜蛾暴发原因及防治对策. 植物保护，25(3): 32 – 34]

Lereclus D, Agaisse H, Gominet M, Chaufaux J, 1995. Overproduction of encapsulated insecticidal crystal proteins in a *Bacillus thuringiensis* spoOA mutant. *Bio/Technology*, 13: 67 – 71.

Li RQ, Ma ZY, Wang QY, Wang XF, Zhang GY, Li XH, 2005. Identification and screening on insect resistance of Bt/CpTI transgenic cottons. *Journal of Plant Genetic Resources*, 6(4): 409 – 413. [李瑞奇，马峙英，王勤英，王省芬，张桂寅，李喜焕，2005. 转 Bt/CpTI 基因棉花抗虫性鉴定与筛选. 植物遗传资源学报，6(4): 409 – 413]

Luo LZ, Cao YZ, Jiang XF, 2000. The aspect and trend of outbreak and damage of the beet armyworm *Spodoptera exigua* in China. *Plant Protection*, 26(3): 37 – 39. [罗礼智，曹雅忠，江幸福，2000. 甜菜夜蛾发生危害特点及其趋势分析. 植物保护，26(3): 37 – 39]

Luttrell RG, Wan L, Knighten K, 1999. Variation in susceptibility of noctuid (Lepidoptera) larvae attacking cotton and soybean to purified endotoxin proteins and commercial formulations of *Bacillus thuringiensis*. *J. Econ. Entomol.*, 92(1): 21 – 32.

Mikkola K, Salmensuu P, 1965. Migration of *Laphygma exigua* (Lep., Noctuidae) in northwestern Europe in 1964. *Ann. Zool. Fenn.*, 2: 124 – 391.

Moar WJ, Osbrink WLA, Trumble JT, 1986. Potentiation of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* with thuringiensin on beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, 79: 1443 – 1446.

Moar WJ, Masson L, Brousseau R, Trumble JT, 1990. Toxicity to *Spodoptera exigua* and *Trichoplusia ni* of individual P1 protoxins and sporulated cultures of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-1 and NRD-12. *Appl. Environ. Microbiol.*, 56(8): 2480 – 2483.

Porcar M, Martínez C, Caballero P, 2000. Host range and gene contents

of *Bacillus thuringiensis* strains toxic towards *Spodoptera exigua*. *Entomol. Exp. Appl.*, 97: 339 - 346.

Sun W, Cao YH, 2005. Study on the temporal and spatial expressions of Bt toxin protein of Bt transgenic cotton. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 33(2): 202 - 203. [孙伟, 曹玉洪, 2005. 转 Bt 基因抗虫棉 Bt 毒蛋白表达量的时空变化. 安徽农业科学, 33(2): 202 - 203]

Wang WQ, Jin HF, Li SY, 2002. Preliminary observation of serious damage of resistant cotton created by beet armyworm. *China Cotton*, 29(10): 27 - 28. [王万群, 晋汉凤, 李尚义, 2002. 抗虫棉遭遇甜菜夜蛾严重危害的初步观察. 中国棉花, 29(10): 27 - 28]

Wang XR, Li YZ, Lu HH, 1995. The progress of study in beet armyworm (*Spodoptera exigua* Hübner). *Journal of Zhongkai Agrotechnical College*, 8(2): 87 - 93. [王晓容, 黎永栈, 卢辉红, 1995. 甜菜夜蛾研究进展. 仲恺农业技术学院学报, 8(2): 87 - 93]

Wang ZY, Wang DY, He KL, Bai SX, Liu H, Cong B, 2005. Effects of transgenic corn hybrids expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin on survival and growth of the beet armyworm *Spodoptera exigua* Hübner. *Acta Entomol. Sin.*, 48(2): 214 - 220. [王振营, 王冬妍, 何康来, 白树雄, 刘慧, 丛斌, 2005. 转 Bt 基因玉米对甜菜夜蛾幼虫存活和发育的影响. 昆虫学报, 48(2): 214 - 220]

Wu G, Marvin KH, Guo JY, Wang FH, 2008, Response of multiple generations of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner), feeding on transgenic Bt cotton. *J. Appl. Entomol.*, 133: 90 - 100.

Xia JY, Cui JJ, Chang RQ, 2000. Study on resistance of Bt cotton on beet armyworm. *China Cotton*, 27(9): 10 - 11. [夏敬源, 崔金杰, 常蕊芹, 2000. 转基因抗虫棉对甜菜夜蛾的抗性研究. 中国棉花, 27(9): 10 - 11]

Xue M, Dong J, Zhang CS, 2002. Effects of feeding Bt cotton and other plants on the changes of development and insecticide susceptibility of lesser armyworm *Spodoptera exigua* (Hübner). *Acta Phytophyl. Sin.*, 29(1): 13 - 18. [薛明, 董杰, 张成省, 2002. 取食转 Bt 基因棉等植物对甜菜夜蛾生长发育和药剂敏感性的影响. 植物保护学报, 29(1): 13 - 18]

Yin XD, Xu J, Liu Q, Zhu JL, 2004. The idiosyncrasy responses of *Spodoptera exigua* and *Helicoverpa armiger* to *Bacillus thuringiensis*. *Jiangsu Agricultural Sciences*, (1): 55 - 57. [殷向东, 徐健, 刘琴, 朱锦磊, 2004. 甜菜夜蛾和棉铃虫对 Bt 的特异性反应. 江苏农业科学, (1): 55 - 57]

Zeng XH, Yu ZN, Hu C, 1999. Effect of Cry1C toxin from *Bacillus thuringiensis* on growth, survival and feeding behavior of beet armyworm larva. *Journal of Zhejiang Agricultural University*, 25(1): 62 - 66. [曾晓慧, 喻子牛, 胡萃, 1999. 苏云金杆菌 Cry1C 毒素对甜菜夜蛾幼虫生长发育、存活及取食行为的影响. 浙江农业大学学报, 25(1): 62 - 66]

Zhang XL, Chen P, Chen CF, Yang YZ, 2007. Effects of the transgenic Bt cotton on laboratory population increasing of the beet armyworm *Spodoptera exigua*. *Acta Phytophyl. Sin.*, 34(4): 391 - 395. [张小丽, 陈萍, 陈翠芳, 杨益众, 2007. 转 Bt 基因抗虫棉对甜菜夜蛾实验种群增长的影响. 植物保护学报, 34(4): 391 - 395]

Zhang XS, Li SG, Xu CR, Zhao JZ, Zhao KJ, 2000. *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein levels in different tissue and growing period of transgenic cotton determination using ELISA. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Pekinensis*, 36: 477 - 484. [张小四, 李松岗, 许崇任, 赵建周, 赵奎军, 2000. 转 Bt 棉不同生育期及不同器官杀虫蛋白表达量的免疫学方法测定. 北京大学学报(自然科学版), 36: 477 - 484]

Zhao XG, Chen W, Zhong LS, 1999. Effects of Bt on growth and development of the beet armyworm *Spodoptera exigua*. *Hubei Plant Protection*, (1): 13 - 14. [赵小公, 陈伟, 钟连胜, 1999. Bt 对甜菜夜蛾生长发育的影响. 湖北植保, (1): 13 - 14]

Zheng DS, Huang JY, Yan JP, Yuan ZM, Cai QX, Liu HZ, 2000. Screening for beet armyworm active *Bacillus thuringiensis* strains. *Virol. Sin.*, 15(Special Issue): 98 - 101. [郑大胜, 黄军艳, 闫建平, 袁志明, 蔡全信, 刘海舟, 2000. 苏云金杆菌对甜菜夜蛾毒性的筛选. 中国病毒学, 15(杀虫微生物专刊): 98 - 101]

Zhong Y, Chen GH, Liu XX, Zhang QW, Li JC, 2009. Effects of insecticidal protein from *Bacillus thuringiensis* on the growth and development of *Spodoptera exigua*. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 24(2): 195 - 198. [钟勇, 陈国华, 刘小侠, 张青文, 李建成, 2009. Bt 杀虫蛋白对甜菜夜蛾生长发育的影响. 云南农业大学学报, 24(2): 195 - 198]

Zhou W, Wang DS, 2004. Biological characteristics and control measures of *Spodoptera exigua* (Hb.). *Anhui Agriculture*, (9): 22. [周文, 汪登松, 2004. 甜菜夜蛾生物学特性及防治技术. 安徽农业, (9): 22]

(责任编辑: 袁德成)